

УДК 616.594.171.2:615.282

ВОЗДЕЙСТВИЕ АНТИФУНГАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БАКТЕРИИ И ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ОТ ЛЮДЕЙ В КРЫМУ

**Криворутченко Ю. Л., Кирсанова М. А., Постникова О. Н., Логадырь Т. А.,
Чепурина Д. В., Шейко Е. А., Шевкопляс Л. А.**

*Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: m.a_kirsanova@mail.ru*

Проведено сравнительное изучение чувствительности к флюконазолу изолятов грибов рода *Candida*, полученных в периоды 2000–2008 гг. и 2014–2016 гг. в г. Симферополе от здоровых лиц, ВИЧ-инфицированных детей и больных со стоматологической патологией. Кроме того, были исследованы профили резистентности клинических изолятов бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* к наиболее широко применяемым антимикотикам. Чувствительность изученных изолятов к антимикотикам была определена с помощью диско-диффузионного метода. Установлено, что чувствительность к флюконазолу изолятов грибов, полученных от здоровых лиц в 2014–2016 гг. (около 16 %), была в 2,6 раза ниже, чем чувствительность изолятов, полученных в 2000–2008 гг. Уровни чувствительности дрожжеподобных грибов, выделенных от ВИЧ-инфицированных детей и больных со стоматологической патологией, не продемонстрировали статистически достоверных изменений и варьировали от 0 % до 25 % на протяжении всех периодов наблюдения. Изучение воздействия антимикотиков группы азолов на рост бактерий выявило, что 45 % изолятов *E. coli* и 47 % изолятов *S. aureus* были чувствительны к клотримазолу, к итраконазолу – 70 % и 80 % изолятов соответственно. К флюконазолу были устойчивы все изоляты *S. aureus* и чувствительны 27 % изолятов *E. coli*. Все изоляты *E. coli* и 90 % изолятов *S. aureus* оказались резистентными к амфотерицину В, в то время, как чувствительными к нистатину были 46 % изолятов *E. coli* и 38 % изолятов *S. aureus*. Таким образом, чувствительность многих клинических изолятов *E. coli* и *S. aureus* к антимикотикам группы азолов продемонстрировала обнадеживающие перспективы использования некоторых антифунгальных препаратов для лечения заболеваний, вызываемых как грампозитивными, так и грамотрицательными бактериями.

Ключевые слова: чувствительность к антимикотикам (амфотерицин В, нистатин, итраконазол, клотримазол, флюконазол), *Candida spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

ВВЕДЕНИЕ

Со времен открытия и внедрения в практику борьбы с инфекционными агентами антибиотиков не прошло и ста лет, а проблема антибиотикоустойчивости микроорганизмов приобрела глобальный характер.

Важным фактором, усугубляющим снижение чувствительности к противомикробным препаратам, является появление микроорганизмов, устойчивых одновременно к нескольким антибиотикам (полирезистентность, перекрестная лекарственная устойчивость). Обычно использование нового антибиотика приводит к гибели антибиотикочувствительных и распространению антибиотикорезистентных микроорганизмов, т.е. антибиотик в этой ситуации

играет роль селективного фактора [1]. Сегодня распространение устойчивости патогенных грибов и бактерий к антимикробным препаратам рассматривается как одна из наиболее важных проблем медицины [2, 3]. За последние десятилетия значительно снизилась чувствительность грибов к антифунгальным препаратам. В особенности это касается клинических изолятов, полученных от больных, которых длительное время лечили антимикотиками. Так было показано, что оппортунистические грибы, изолированные от ВИЧ-инфицированных пациентов и больных с онкологической патологией, демонстрируют высокую устойчивость к большинству препаратов, относящихся к группе азолов [4, 5]. Особенно интенсивно росла заболеваемость инвазивными инфекциями, вызываемыми резистентными грибами, принадлежащими к родам *Candida* и *Aspergillus* [6].

Важным для понимания проблемы распространения антимикотико-устойчивых дрожжевых и дрожжеподобных грибов является вопрос о достоверности сведений, представленных различными авторами в тот или иной период времени. Во многих случаях данные о чувствительности патогенных дрожжевых грибов к антифунгальным препаратам были получены на основе применения диско-диффузионного метода. Однако в последнее десятилетие отношение к применению этого метода для учета чувствительности дрожжевых грибов к антимикотикам претерпело существенные изменения. Так, в соответствии со стандартом CLSI M44-A2 «Метод определения чувствительности дрожжей к противогрибковым препаратам диско-диффузионным методом» признается, что диско-диффузионный метод обеспечивает достоверную оценку чувствительности указанного типа грибов только к флуконазолу и вориконазолу [7].

В настоящее время в качестве наиболее точных и воспроизводимых методов определения чувствительности к противогрибковым препаратам рассматриваются методы микроразведений, позволяющие устанавливать минимальные подавляющие концентрации (МПК) антифунгальных препаратов. К ним относятся методики CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, Институт клинических и лабораторных стандартов США) и EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам), имеющие некоторые непринципиальные различия в постановке и составе питательных сред. Обе методики предоставляют сравнительно близкие результаты определения МПК для всех классов антимикотиков [8, 9].

Приведенные выше ограничения по применению диско-диффузионного метода для определения чувствительности грибов к антимикотикам не распространяются на использование этого метода для определения чувствительности бактерий к противомикробным препаратам. Сегодня воздействие антибиотиков на бактерии может определяться как с помощью стандартного диско-диффузионного метода, так и с помощью метода микроразведений [7].

Учитывая широкое распространение устойчивости прокариотических организмов к противомикробным препаратам, создававшимся для лечения бактериальных инфекций, интересным представляется изучение воздействия на бактериальную микробиоту антифунгальных препаратов. Ранее была выявлена способность отдельных антифунгальных препаратов подавлять рост некоторых

микобактерий, стафилококков и стрептококков. У антимикотиков, относящихся к полиеновым антибиотикам, способность разрушать грибы объясняется их прямым взаимодействием со стеролами мембранных структур клеток. В этой связи высказывалось мнение, что бактерии должны быть устойчивыми к полиенам, поскольку в мембранах бактерий (за исключением микоплазм) отсутствует эргостерол [10]. В отношении воздействия на бактерии антимикотиков группы азолов было установлено, что некоторые грамположительные бактерии, обладающие ферментами цитохром Р450-зависимыми С14альфа-стерол деметилазами (P-450_{DM}), чувствительны к этим антифунгальным препаратам [11]. Было показано, что некоторые азолы способны препятствовать росту *Mycobacterium smegmatis* и, таким образом, представляют интерес в плане лечения туберкулеза [12]. У таких антифунгальных препаратов из группы азолов, как клотримазол, миконазол, эконазол и кетоконазол, была выявлена способность подавлять рост грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Streptococcus pyogenes* [13]. Однако некоторые исследователи пришли к заключению, что указанные выше антимикотики группы азолов не способны подавлять рост грамотрицательных бактерий, таких как *Escherichia coli*, или оказывают на них очень слабое угнетающее действие [12, 13]. Поскольку приведенные работы, описывающие отсутствие ингибирующего эффекта у антимикотиков в отношении кишечной палочки и других грамотрицательных энтеробактерий, проводились на ограниченном количестве штаммов, остается открытым вопрос о том, насколько широко устойчивость к таким препаратам распространена среди клинических изолятов этих бактерий.

Целью настоящего исследования явилось изучение с помощью диск-диффузионного метода чувствительности к флюконазолу изолятов грибов рода *Candida*, выделенных от людей в разные периоды времени после 2000 г., и сопоставление чувствительности к полиеновым антимикотикам и азолам у изолятов бактерий *E.coli* и *S.aureus*, выделенных от здоровых и больных людей в Крыму.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали изоляты грибов рода *Candida*, выделенные от здоровых лиц, ВИЧ-инфицированных детей и больных со стоматологической патологией. Изоляты грибов были выделены в г. Симферополе за периоды 2000–2008 гг (n=79) и 2014–2016 гг (n=48). Кроме того, изучали выделенные в 2014–2016 гг. изоляты бактерий *E.coli* (n=11) и *S.aureus* (n=21). Кишечные палочки были получены из мочи больных с урологической патологией, стафилококки – из носоглотки студентов-медиков старших курсов. Грибы культивировали на агаризованной среде Сабуро, бактерии – на мясо-пептонном агаре (МПА) с содержанием аминного азота 0,11–0,13 %. Чувствительность грибов к флюконазолу и бактерий к антифунгальным препаратам амфотерицину В (Амф В), нистатину (Нис), итраконазолу (Итра), клотримазолу (Кло) и флюконазолу (Флю) определяли стандартным методом диффузии в агар в соответствии с рекомендациями производителя дисков (ФБУН НИИ ЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия) и клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов

к антимикробным препаратам» Версия-2018-03 [7]. Диски имели следующие характеристики: Нис – содержание Нис в диске – 80 мкг; Амф – содержание Амф В в диске – 40 мкг; Флю – содержание Флю в диске – 40 мкг; Кло – содержание Кло в диске – 10 мкг; Итра – содержание Итра в диске – 10 мкг. Для оценки чувствительности бактерий к антимикотикам использовали критерии, предлагаемые производителем дисков для определения чувствительности к препаратам грибов рода *Candida*. Бактерии считали условно чувствительными при диаметрах зон подавления роста культур (Д) для: Нис ≥ 18 мм, Амф В ≥ 14 мм, Флю ≥ 19 мм (при Д 15–18 мм – промежуточно-чувствительными), Кло ≥ 12 мм, Итра ≥ 19 мм (при Д 14–18 мм – промежуточно-чувствительными, ПЧ).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью t-теста Стьюдента для непарных выборок, используя программу Microsoft Office Excel 2007. Определяли средние значения и ошибки средних значений ($M \pm m$). Для сопоставления чувствительности бактерий к разным антимикотикам дополнительно использовали W-критерий Вилкоксона. Достоверными считали различия при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе было проведено сравнительное исследование чувствительности к флюконазолу грибов рода *Candida*, выделенных в г. Симферополе от здоровых лиц, ВИЧ-инфицированных детей и больных со стоматологической патологией, в первое десятилетие XXI века (2000–2008 гг.) и на 6–10 лет позже – с 2014 года по 2016 год. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1
Чувствительность к флюконазолу изолятов грибов рода *Candida*, выделенных в г. Симферополя в периоды 2000-2008 гг. и 2014-2016 гг.

Годы выделения грибов (гг.)	Чувствительность грибов к флюканозолу (%) по группам / количество изолятов (n)		
	Здоровые	ВИЧ-инфицированные	Больные со стоматологической патологией
2000–2008	41,7±10,3 / n=24	17,7±6,6 / n=34	23,8±9,5 / n=21
2014–2016	16,0±7,5 / n=25	0,0±0,0 / n=15	25,0±16,4 / n=8
Достоверность различий (критерий Стьюдента), p	p=0,048*	P=0,322	p=0,953

* – различия достоверны

Как видно из таблицы чувствительность к флюконазолу у грибов рода *Candida*, выделенных в 2014–2016 гг. от всех категорий обследованных, находилась на критически низком уровне (от 0 % до 25,0±16,4 %). При этом у изолятов грибов,

выделенных от здоровых лиц, по сравнению с 2000–2008 гг. чувствительность изученных дрожжеподобных грибов к флюконазолу достоверно снизилась в 2,6 раза. У грибов, выделенных от ВИЧ-инфицированных лиц и больных с различной стоматологической патологией, за тот же интервал времени достоверных изменений чувствительности к указанному антимикотику не произошло – она не превысила 25 %.

Приведенные нами данные о нарастании резистентности к флюконазолу у крымских изолятов дрожжеподобных грибов, выделенных от людей за первые полтора десятилетия XXI века, полностью согласуются с данными других авторов, отмечавших аналогичные процессы в отношении многих применяемых ныне антимикотиков [4–6].

Формирование устойчивости грибов к антифунгальным препаратам зависит от различных факторов. Не исключено, что определенное влияние на этот процесс могут оказывать бактерии, находящиеся в тех же биотопах, что и грибы, и, как и грибы, подвергающиеся воздействию антимикотиков. Учитывая это, одним из представляющих интерес направлений в исследовании реакции микрофлоры на антифунгальные препараты, является изучение чувствительности к антимикотикам бактерий, колонизирующих нестерильные биотопы тела человека. В связи с этим на следующем этапе наших исследований с помощью метода дисков была изучена чувствительность к разным антимикотикам изолятов *E. coli* и *S. aureus*, выделенных от больных и студентов-медиков в г. Симферополе в 2014–2016 гг.

Применение дисков с антимикотиками для изучения чувствительности к ним бактерий приводило к формированию вокруг дисков типичных зон отсутствия роста микроорганизмов, как это показано на рисунке 1, демонстрирующем подавление роста одного из изученных изолятов *S. aureus* антимикотиком итраконазолом.

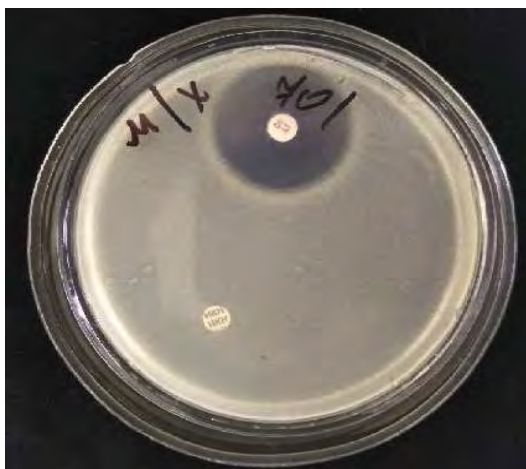


Рис. 1. Подавление роста клинического изолята *S. aureus* антимикотиком итраконазолом при исследовании методом дисков.

Результаты изучения условной чувствительности клинических изолятов бактерий к антимикотикам при помощи метода дисков представлены на рисунке 2.

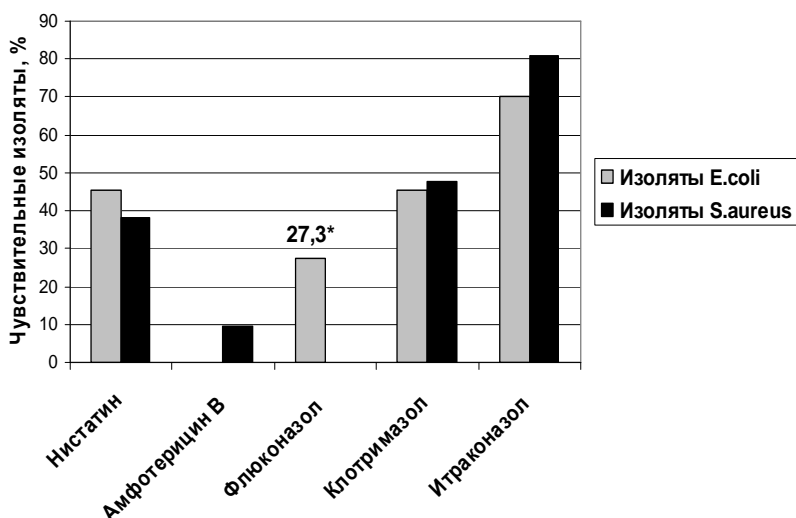


Рис. 2. Чувствительность к антимикотикам бактерий, выделенных от больных и студентов-медиков в г. Симферополе в 2014–2016 гг. (определено методом дисков).

* – различия в чувствительности разных видов бактерий достоверны, W-критерий Вилкоксона, $p=0,013$.

Принимая в качестве условия для оценки воздействия антимикотиков на бактерии те же критерии (диаметры зон подавления роста культур), которые были предложены производителями дисков для определения чувствительности к препаратам грибов рода *Candida*, было показано, что все выделенные культуры *E. coli* и 90,5 % изолятов *S. aureus* были устойчивы к амфотерицину В. Около половины изолятов *E. coli* ($45,5 \pm 15,8$ %) и *S. aureus* ($38,1 \pm 10,9$ %) были условно чувствительны к нистатину. Около половины изолятов *E. coli* ($45,5 \pm 15,8$ %) и *S. aureus* ($47,6 \pm 11,2$ %) были условно чувствительны к клотримазолу. Максимальную условную чувствительность и те, и другие бактерии демонстрировали к итраконазолу ($70,0 \pm 15,3$ % и $80,9 \pm 8,8$ % соответственно). Четвертая часть культур кишечной палочки ($27,3 \pm 14,1$ %) оказалась условно чувствительной к флюконазолу, а все изоляты *S. aureus* были устойчивы к этому препарату. При этом только разница между чувствительностью изолятов *E. coli* и *S. aureus* к флюконазолу оказалась достоверной (W-критерий Вилкоксона, $p=0,013$).

Системные и поверхностные микозы, вызванные дрожжеподобными грибами, в первую очередь грибами рода *Candida*, являются наиболее распространённой формой грибковых инфекций человека. Развитие кандидоза чаще всего происходит на фоне различных иммунодепрессивных состояний и протекает в виде разнообразных поверхностных, висцеральных и диссеминированных поражений. Большие проблемы современной медицины, обусловленные распространением

микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам, имеют отношение и к условно-патогенным грибам [2, 5, 6].

О масштабах этого процесса свидетельствует то, что в последние годы удельный вес полирезистентных дрожжеподобных грибов, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов, превысил критический уровень [3, 4].

На сегодняшний день для лечения микозов, и в частности – кандидозов, применяется широкий спектр антимикотических средств. Однако к настоящему времени сформировалась тенденция к увеличению скорости возникновения резистентности к противомикробным препаратам у грибов [2, 3]. Причины этого явления различны. К ним относятся большая длительность лечения антимикотиками, обусловленная тем, что многие микозы имеют хронический характер течения, и способность некоторых грибов (в том числе представителей рода *Candida*) длительно выживать в больничной среде [4, 5]. К ухудшению ситуации приводит и бесконтрольное применение антифунгальных препаратов и антибактериальных средств.

Исследования, проведенные в рамках настоящей работы, подтвердили возрастающее распространение резистентных форм дрожжеподобных грибов на примере снижения чувствительности к флюконазолу у грибов рода *Candida*, выделенных за последние десять лет в г. Симферополе от здоровых лиц. У грибов, полученных в 2000–2008 годах, доля чувствительных к флюконазолу изолятов была статистически достоверно в 2,6 раза выше, чем у грибов, выделенных в 2014–2016 годах. Эта тенденция не была подтверждена статистически для грибов, изолированных в указанные интервалы времени от ВИЧ-инфицированных лиц и больных с патологией полости рта, но общий уровень чувствительности к флюконазолу у этой категории изолятов был критически низок на протяжении всего срока наблюдения – он колебался в пределах 0–25 %.

Широко известно, что к избыточному росту дрожжеподобных грибов и возникновению микозов может приводить длительное применение антибактериальных препаратов, удаляющее из организма животных и человека бактерии, находящиеся в конкурентных взаимоотношениях с грибами [14].

Так было показано, что мыши с интактной нормальной кишечной микробиотой гораздо более устойчивы к колонизации патогенными для этих животных грибами *Candida albicans*, чем животные, получавшие антибактериальные препараты перорально [15].

Назначение антибактериальных химиопрепаратов, в частности антибиотиков широкого спектра действия и препаратов, подавляющих рост преимущественно анаэробных бактерий, вызывало различные эффекты по отношению к чувствительности к грибам и предрасполагало к развитию гастроинтестинальных кандидозных инфекций у мышей и людей [16, 17].

Не исключено, что на формирование устойчивости грибов к определенным антимикотикам может влиять присутствие в биотопах, колонизированных грибами чувствительных к этим же антимикотикам бактерий. В этом случае антифунгальные препараты могли бы участвовать в устранении бактерий как конкурентов грибов, а некоторые бактерии, вероятно, могли бы потреблять антимикотик, снижая его

эффективную концентрацию в данном биотопе. Ранее было показано, что такие грамположительные бактерии, как *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Streptococcus pyogenes* чувствительны к антифунгальным препаратам, относящимся к азолам [11, 13]. При этом бытует мнение, что антимикотики группы азолов, такие как клотримазол, эконазол, миконазол и кетоконазол, а также полиеновые антибиотики не подавляют жизнедеятельность грамотрицательных бактерий, таких как *Escherichia coli*, или оказывают на них очень слабое угнетающее действие [12, 13].

В нашем исследовании с помощью диск-диффузионного метода было изучено влияние ряда антимикотиков на рост клинических изолятов *E. coli* и *S. aureus*. При этом исходили из того, что, по крайней мере, часть изолятов *S. aureus* должна быть чувствительна хотя бы к некоторым антифунгальным препаратам, принадлежащим к азолам [11, 13]. Второй посыл заключался в том, что если эффект подавления роста стафилококков антимикотиками будет выявлен с помощью диск-диффузионного метода, то правомерным будет применение этого подхода и для исследования воздействия таких препаратов на изоляты кишечной палочки.

Как и предполагалось, с помощью метода дисков были подтверждены данные других авторов о чувствительности стафилококков к азолам: около половины изолятов были условно чувствительны к клотримазолу и более 80 % изолятов – к итраконазолу, хотя к флюконазолу все изоляты оказались устойчивы.

В отношении полиеновых антибиотиков результат оказался менее предсказуемым: около десятой части изолятов *S. aureus* проявили условную чувствительность к амфотерицину В и около 40 % изолятов – к нистатину.

Неожиданным явилось то, что большинство изученных антимикотиков проявило способность подавлять рост достаточно большого числа изолятов кишечной палочки. Оказалось, что порядка половины или более изученных изолятов этих грамотрицательных бактерий были чувствительны к таким антимикотикам, как нистатин, клотримазол и итраконазол. Это не соответствовало результатам исследований McLean K.J. и др., 2002. и Alsterholm M. И др., 2010, сообщавших о нечувствительности *E. coli* к антимикотикам [12, 13]. По нашим данным чувствительность к изученным антимикотикам полученных в ходе работы изолятов *E. coli* и *S. aureus*, была близкой. Исключение составил только флюконазол, к которому оказались нечувствительны все изоляты стафилококков, но была чувствительна четвертая часть изолятов эшерихий, что также не совпадало с описанными выше сведениями, опубликованными другими авторами.

Расхождения результатов нашего исследования в плане относительно высокой чувствительности изолятов кишечной палочки к некоторым азолам и данных других авторов, могут быть обусловлены тем, что в работах применялись разные методики оценки свойств бактерий, разные коллекции штаммов и изолятов бактерий, полученных в разное время из разных источников, или иные причины. Все это, по нашему мнению, требует проведения дополнительных исследований, усовершенствования и стандартизации методик определения чувствительности бактерий к антимикотикам. Такие исследования необходимы для формирования лучшего понимания того, как антифунгальные препараты влияют на микробные

сообщества различных биотопов тела человека и других мест совместного обитания бактерий и грибов, а также того, насколько реальны перспективы использования антифунгальных препаратов для лечения бактериальных инфекций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Чувствительность к антифунгальному препарату флюконазолу у грибов рода *Candida*, выделенных в Крыму от здоровых людей за последние 15 лет, снизилась в 2,6 раза, и составила для изолятов, выделенных в 2014–2016 годах, 16 %.
2. Чувствительность к флюконазолу у грибов рода *Candida*, выделенных в Крыму в 2014–2016 годах от ВИЧ-инфицированных лиц и больных со стоматологической патологией, находится на критически низком уровне и составляет от 0 % до 25 %.
3. Изоляты бактерий *E. coli* и *S. aureus* при использовании дисков, пропитанных антимикотиками, продемонстрировали выраженную чувствительность к ряду препаратов группы азолов: к клотримазолу – 45 % и 47 %, к итраконазолу – 70 % и 80 % изолятов, соответственно. К флюконазолу проявили чувствительность 27 % изолятов *E. coli* и ни один из изолятов *S. aureus*.
4. Уровень чувствительности бактерий к антифунгальным полиеновым антибиотикам был ниже: к нистатину были чувствительны около 46 % изолятов *E. coli* и 38 % *S. aureus*. Все культуры *E. coli* и 90 % изолятов *S. aureus* были устойчивы к амфотерицину В.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» на 2015–2024 годы по проекту «Поддержка академической мобильности работников университета на заявительной основе».

Список литературы

1. Абдалкин М.Е. Новый универсальный способ преодоления лекарственной устойчивости микроорганизмов / М. Е. Абдалкин // Медицинские науки. – 2011. – № 10. – С. 247–250.
2. Kanafani Z.A. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact / Z.A. Kanafani, J. R. Perfect // Clinical infectious diseases. – 2008. – Vol. 46, No 1. – P.120–128.
3. Мелёхина Ю.Э. Клинико-иммунологические особенности рецидивирующего кандидоза пищевода у ВИЧ/СПИД-негативных больных в г. Санкт-Петербурге / Ю.Э. Мелёхина, Е.В. Фролова, М. А. Шевяков, А.Е. Учеваткина, Л.В. Филиппова, И.В. Выборнова, О.А. Шурпицкая, Ю. Л. Авдеевко, Н. Н. Клишко // Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т. 10, №3. – С.11–16.
4. Марковская А.А. Роль грибов рода *Candida*, в развитии оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных детей / А.А. Марковская // Медицина в Кузбассе. – 2015. – Т.14, №4. – С. 23–26.
5. Багирова Н.С. Определение резистентности *Candida* spp. к антифунгальным препаратам системного действия эпсилотрихическим методом (Е-тест) с учетом видоспецифических особенностей кандид / Н. С. Багирова, Н. В. Дмитриева // Журнал инфектологии. – 2015. – Т.7, №3. – С. 91–102.

6. Fisher M.C. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security / M.C. Fisher, N.J. Hawkins, D. Sanglard, S.J. Gurr // *Science*. – 2018. – Vol. 360, No 6390. – P. 739–742.
7. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» Версия-2018-03, Интерпретация и правила проведения клинических лабораторных исследований, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. – 2018. – С.175–195.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa. – 2008.
9. Arendrup M.C. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST) / M.C. Arendrup, M. Cuenca-Estrella, C. Lass-Flörl, W. Hope // *Clinical infectious diseases*. – 2012. – Vol. 18, No 7. – P. 246–247.
10. Ghannoum M.A. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance / M.A. Ghannoum, L.B. Rice // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1999. – Vol.12, No 4. – P.501–517.
11. Kokjohn K. Evaluation of in vitro activity of ciclopirox olamine, butenafine HCL and econazole nitrate against dermatophytes, yeasts and bacteria / K. Kokjohn, M. Bradley, B. Griffiths, M. Ghannoum // *Int. J. Dermatol.* – 2003. – Vol. 42, No 142. – P. 11–17.
12. McLean K.J. Azole antifungals are potent inhibitors of cytochrome P450 mono-oxygenases and bacterial growth in mycobacteria and streptomycetes / K.J. McLean, K.R. Marshall, A. Richmond, I.S. Hunter, K. Fowler, T. Kieser, S.S. Gurcha, G.S. Besra, A.W. Munro // *Microbiology*. – 2002. – Vol. 148, No 10. – P. 2937–2049.
13. Alsterholm M. Antimicrobial activity of topical skin pharmaceuticals – an in vitro study / M. Alsterholm, N. Karami, J. Faergemann // *Acta Derm.Venereol.* – 2010. – Vol. 90, No 3. – P. 239–245.
14. Sam Q.H. The fungal mycobiome and its interaction with gut bacteria in the host / Q.H. Sam., M. W. Chang, L.Y.A Chai // *Int.J.Mol.Sci.* – 2017. – Vol. 18, No 2. – P. 330.
15. Van der Waaij D. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice / D. Van der Waaij, J. M. Berghuis-de Vries, J. E. C. Lekkerkerk-van der Wees // *J. Hyg.* – 1971. – Vol. 69, No 3. – P. 405–411.
16. Clark J.D. Influence of antibiotics or certain intestinal bacteria on orally administered candida albicans in germ-free and conventional mice / J.D. Clark. // *Infect. Immun.* – 1971. – Vol. 4, No 6. – P. 731–737.
17. Samonis G. Prospective evaluation of effects of broad-spectrum antibiotics on gastrointestinal yeast colonization of humans / G. Samonis, A. Gikas, E.J. Anaissie, G. Vrenzos, S. Maraki, Y. Tselentis, G. P. Bodey // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1993. – Vol. 37, No 1. – P. 51–53.

EFFECTS OF ANTIFUNGAL DRUGS ON BACTERIA AND YEAST LIKE FUNGI OBTAINED FROM HUMANS IN CRIMEA

***Krivorutchenko Yu. L., Kirsanova M. A, Postnikova O. N., Logadir T. A.,
Chepurina D. V., Sheiko E. A., Shevkoplyas L. A.***

***V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: m.a_kirsanova@mail.ru***

A comparative study of susceptibility to fluconazole of fungal *Candida* isolates obtained in the city of Simferopol from healthy individuals, HIV-infected children and dental patients in the periods from 2000–2008 to 2014–2016 and resistance profiles of bacterial *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* clinical isolates to the most common antimycotics used in therapy was carried out. Antimycotic susceptibility of the isolates

was determined by disc-diffusion method. The fluconazole susceptibility levels of fungal isolates obtained from healthy people in 2014–2016 (about 16 %) were 2.6 times lower than the susceptibility of isolates obtained in 2000–2008 period. The fluconazole susceptibility levels of yeast like fungi isolates obtained from HIV-infected children and dental patients during last 15 years did not demonstrate statistically valuable changes. These susceptibility levels were critically low and varied from 0 % to 25 % during all periods of the investigation. Study of azole group antimycotic effects on bacterial growth displayed that 45 % of *E. coli* and 47 % of *S. aureus* isolates were sensitive to clotrimazole whereas 70 % and 80 % of the isolates, respectively, were sensitive to itraconazole. All the isolates of *S. aureus* were resistant to fluconazole and 27 % of *E. coli* isolates were sensitive to this antimycotic. Levels of susceptibility of the bacterial isolates to polyene antifungals amphotericin B and nystatin were lower than susceptibility of the isolates to clotrimazole and itraconazole. All the *E. coli* isolates and 90 % of *S. aureus* isolates were resistant to amphotericin B whereas 46 % of the *E. coli* isolates and 38 % of the *S. aureus* isolates were susceptible to nystatin. Thus, sensitivity of many *E. coli* and *S. aureus* clinical isolates to azole group antimycotics demonstrated a good outlook for use of some the antifungal drugs for the treatment of diseases caused by both gram-positive and gram-negative bacteria.

Keywords: antifungal drug sensitivity (amphotericin B, nystatin, clotrimazole, itraconazole, fluconazole), *Candida spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

References

1. Abdalkin M.E., New universal method to overcome the resistance of microorganism, *Medical sciences*, **10**, 247 (2011).
2. Kanafani Z.A., Perfect J.R. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact, *Clinical infectious diseases*, **46** (1), 120 (2008).
3. Melekhina Iu.E., Frolova E.V., Shevyakov M.A., Uchevatkina A.E., Filippova L.V., Vybornova I.V., Shurpitskaya O.A. Avdeenko Yu.L., Klimko N.N. Clinical and immunological peculiarities recurrent esophageal candidosis (REC) in HIV – negative patients in St. Petersburg, *Problems in medical mycology*, **10** (3), 11 (2008).
4. Markovskaya A.A. The role of *Candida* in the development of HIV-infected children`s opportunistic infections, *Medicine in Kuzbass*, **14** (4), 23 (2015).
5. Bagirova N.S, Dmitrieva N.V. Determination of resistance *Candida spp.* to antifungal agents with systemic action epsilometric method (E-test) with the species-specific characteristics of *Candida*, *Journal Infectology*, **7** (3), 91(2015).
6. Fisher M.C., Hawkins N.J., Sanglard D., Gurr S.J. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security, *Science*, 360 (6390),739 (2018).
7. Clinical recommendations "Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial agents" Version-2018-03, Interpretation and rules for conducting clinical laboratory research, Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy, 206 p. (2018).
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa. (2008).
9. Arendrup M.C., Cuenca-Estrella M., Lass-Flörl C., Hope W. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST). *Clin. Microbiol. Infect.*, **18**, 246 (2012).
10. Ghannoum M.A., Rice L.B. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance, *Clin. Microbiol. Rev.*, **12** (4), 501 (1999).

11. Kokjohn K., Bradley M., Griffiths B., Ghannoum M. Evaluation of in vitro activity of ciclopirox olamine, butenafine HCL and econazole nitrate against dermatophytes, yeasts and bacteria, *Int. J. Dermatol.*, **42**, 11 (2003).
12. McLean K.J., Marshall K.R., Richmond A. et al. Azole antifungals are potent inhibitors of cytochrome P450 mono-oxygenases and bacterial growth in mycobacteria and streptomycetes, *Microbiology*, **148**, 2937 (2002).
13. Alsterholm M., Karami N., Faergemann J. Antimicrobial activity of topical skin pharmaceuticals – an in vitro study, *Acta Derm. Venereol.*, **90**, 239 (2010).
14. Sam Q.H., Chang M.W., Chai L.Y.A. The fungal mycobiome and its interaction with gut bacteria in the host, *Int.J.Mol.Sc.*, **18** (2), 330 (2017).
15. Van der Waaij D., Berghuis-de Vries J. M., Lekkerkerk-van der Wees J. E. C. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice, *J. Hyg.*, **69** (3), 405 (1971).
16. Clark J.D. Influence of antibiotics or certain intestinal bacteria on orally administered candida albicans in germ-free and conventional mice, *Infect. Immun.*, **4** (6), 731 (1971).
17. Samonis G., Gikas A., Anaissie E.J., Vrenzos G., Maraki S., Tselentis Y., Bodey G.P. Prospective evaluation of effects of broad-spectrum antibiotics on gastrointestinal yeast colonization of humans, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **37**, 51 (1993).